

Раздел V БИОЭТИКА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Сострадание к животным так тесно связано
с добротою характера, что можно с уверенностью
утверждать, что не может быть добрым тот,
кто жесток с животными.

А. Шопенгауэр

Глава 19 ГУМАННОСТЬ ПРИ РАБОТЕ С ЖИВОТНЫМИ И ПРИНЦИПЫ 3R

Некоторые национальные и европейские законодательства, регулирующее проведение экспериментов на животных, требуют, чтобы всякий раз, когда это возможно, применялись методы без использования животных. В ряде стран желающие получить лицензию на осуществление работ с лабораторными животными должны представить детальную программу мероприятий по *сокращению, усовершенствованию* и *замене* экспериментов с использованием животных. Это и есть предмет биоэтики. Биоэтика изучает моральные, юридические и социальные проблемы, возникающие по мере развития биологии и медицины. Она основывается на достижениях биологии, медицины, логики, философии [378]. Важное место в этой дисциплине занимают и вопросы этики проведения научных экспериментов на живых животных [87, 373].

Необходимость сокращения, усовершенствования и замены экспериментирования на животных и перехода к исследованиям на основании компромиссных походов отражена в многочисленных научных и публицистических работах [149, 151, 160, 215, 366, 372, 377, 412, 481, 582].

В последние годы наблюдается жесткое противостояние между теми, кто отстаивает разумное и обоснованное *сокращение, усовершенствование* и *замену* экспериментов на животных, и теми, кто считает, что подобные эксперименты не могут быть

оправданы никакими соображениями, если принять во внимание вероятные страдания животных. В этой ситуации твердую, взвешенную позицию занимает «Фонд по замене животных в медицинских экспериментах» (FRAME). Эта международная организация последовательно выступает как против действий экстремистских групп, стремящихся возбудить общественное мнение требованиями запрета альтернативных методов исследований, так и против предоставления безграничной свободы ученым, которые проводят биомедицинские исследования на лабораторных животных [32, 214, 281].

Противники проведения исследований, как правило, говорят о страданиях животных и соблюдении их прав, тогда как сторонники черпают свои аргументы в необходимости продолжения исследований над животными с тем, чтобы ускорить прогресс в медицине и биологии, найти новые средства предотвращения и лечения болезней. Наука нуждается в общественном согласии, а это как раз и предполагают принципы сокращения, усовершенствования и замены экспериментирования на животных, суть которых состоит в том, чтобы, обеспечив гуманное отношение к животным, сохранить главное — проведение исследований в интересах жизни и здоровья людей.

Идея защиты животных и природы достаточно сильно, и раньше, чем в других странах, проявилась в Великобритании, где в 1926 году в Великобритании было основано Общество по охране животных Лондонского университета (с 1938 года — Университетская федерация защиты животных, UFAW). Эта организация сыграла и играет важнейшую роль в развитии этических концепций экспериментирования на животных и в становлении практических направлений, улучшающих эксперименты на животных. Группа исследователей во главе с М. Хьюмом, созданная в рамках актива UFAW, предприняла попытку разработать принципы гуманной экспериментальной техники. Работа группы была продолжена У. Расселом и Р.Берчем, когда в 1959 году под их редакцией вышла книга *The Principles of Humane Experimental Technique* («Принципы гуманной экспериментальной техники»). Авторы показали четкую корреляцию между гуманностью научного эксперимента и его научной эффективностью, подчеркнув, что «если используется набор принципов экспериментирования, то критерии гуманизации являются лучшим из того, что мы можем предложить». В монографии Рассела и Берча обоснована концепция гуманного использования животных в экспериментах, которая получила название «Концепция трех R». Концепция трех R имеет биологическое содержание, и поэтому ее с полным правом можно именовать «*Биоэтическая концепция трех R*», в основу которой легли три основных положения: Replacement — замена, Reduction — сокращение, Refinement — улучшение. Эта концепция находит широкое распространение в исследованиях и публикациях последних лет [487, 455].

Replacement – замена в опыте, когда это возможно, высокоорганизованных животных менее развитыми живыми объектами или применение аль-

тернативных методов исследования (эксперименты на культурах клеток и тканей, использование изолированных органов, физико-химических и биохимических системам, эксперименты на микроорганизмах и растительных объектах, компьютерное и математическое моделирование). Есть неплохие результаты в использовании культур клеток тканей (методы *in vitro*) с целью определения общей токсичности химических соединений для человека и животных, оценки иммунотоксичности, нефротоксичности, гепатотоксичности, нейротоксичности, фототоксичности, раздражающего действия, канцерогенности. Успехи в разработке биополимеров позволили получить структуры эквивалентные человеческой коже.

Активные приверженцы биомоделирования второго порядка считают, что необходимо оказать полную поддержку широкому распространению среди научной общественности информации об альтернативных методах, имеющихся в стране или регулярно описываемых во многих международных журналах по альтернативным методам [149, 266].

Reduction – достижение воспроизводимых результатов с использованием минимального количества животных; адекватный выбор лабораторных животных; использование стандартных по микробиологическим, генетическим и экологическим параметрам животных; оптимальное планирование и, что крайне важно, использование статистических методов не только при обработке полученных данных, но и на стадии планирования. Одним из наиболее надежных путей снижения количества животных, используемых в экспериментах, является дальнейшее развитие и осуществление стндартизации лабораторных животных по генотипу, микрофлоре и экологическим параметрам. Благодаря уменьшению количества переменных факторов, стандартизация может помочь в получении более надежных результатов на меньшем количестве животных [482]. Исследователи должны владеть информацией о значительном количестве моделей уже имеющихся для исследований. Отсутствие соответствующей информации или ее недоступность для широкой научной общественности может стать одним из неизбежных факторов неправильного использования лабораторных животных в экспериментах. Вопросы оптимизации в использовании лабораторных животных и планировании экспериментов подробно изложены в предыдущей главе.

Необходимо оказать полную поддержку широкому распространению среди научной общественности информации о моделях, имеющихся или регулярно описываемых во многих биомедицинских журналах. В качестве примера можно привести American Journal of Pathology, который в каждом номере в специальной рубрике публикует статьи по этому вопросу, а также каталог Фестинга [206, 207, 208] и журналы Laboratory Animals и Laboratory Animal Science. Широкий обмен информацией об экспериментах на животных, позволяет избежать неоправданного дублирования, а грамотное

планирование экспериментов и их анализ дает дополнительную и корректную информацию при гораздо меньшем количестве использованных животных [594].

Refinement – улучшение условий содержания лабораторных животных и использования их в экспериментах, уменьшение дистресса животных во время экспериментов и применение обезболивающих средств, но не в ущерб цели эксперимента. С точки зрения внешних проявлений (а также физиологии), животные реагируют на непереносимые боль и дискомфорт так же, как и люди. Для того, чтобы захотеть предотвратить страдания животных, нужно поверить, что животные их испытывают [251]. Даже поверив, что животное может испытывать страдания, и желая предотвратить их, человек может не выполнить обезболивание, если не знает, как это делается, или занят своей работой настолько, что забывает об этом. Для регистрации болевых реакций у животных необходимо углубленное изучение особенностей поведения животных и изменения этого поведения при болевых воздействиях. Концепция исследования боли на животных включает в себя представления о том, что животное не должно подвергаться боли в большей степени, чем может выдержать человек. Следует согласиться с И.П.Павловым, что субъективный подход для строгой науки малоприемлем, но отчасти приемлем в биоэтике экспериментирования на животных, если даже считать, что страдание и боль у животных никем субъективно не переживаются и не могут быть оценены и измерены строго объективно [214, 215, 378].

Активная пропаганда и внедрение биоэтических принципов трех Rs начались с 1969 г, когда в Великобритании появилась организация по охране животных FRAME. Она играет значительную роль в прогрессе гуманной технологии эксперимента. В настоящее время FRAME имеет международный статус и пользуется поддержкой Европейского Союза. Выходит журнал FRAME, который называется ATLA (Alternatives to Laboratory Animals). Это — читаемый и цитируемый биомедицинской прессой журнал. Идеи концепции трех R используются для подготовки законов по охране эксприментальных животных. Биоэтическая концепция трех R отражена в Директивах ЕС 1986 года. В последнее десятилетие растет число симпозиумов и конференций по этой проблеме.

В последние годы под эгидой Европейского Совета в Северной Италии возник Европейский Центр по утверждению (валидации) альтернативных методов (ECVAM). Центр способствует разработке альтернативных (заменяющих эксперименты на животных) методов, проверяет и утверждает адекватность новых или уже имеющихся методов, проводит информационную работу, организует научные конференции и семинары. Биоэтическая концепция трех Rs распространяется все шире и находит применение в странах Западной Европы, в США, Канаде, Австралии, Новой Зеландии, и Японии.

Замена экспериментов на животных альтернативными методами не всегда возможна. С целью обеспечения безопасности для человека вновь разрабатываемых лекарственных препаратов или пищевых добавок во многих странах мира имеются законы, не только защищающие животных, но и обязывающие разработчиков апробировать новые продукты на животных по системе «хорошей лабораторной практики» — GLP (Good Laboratory Practice). Многие научные эксперименты невозможно проводить на менее сложных системах, чем целостный организм. Возрастает потребность в экспериментах на генетически модифицированных животных. В этой связи обсуждаются этические вопросы трансгенной технологии (J.W.Gordon, 1997; A.Hoog, et al 2000, отчет МВД Англии).

Концепция гуманного эксперимента способствовала развитию альтернативных методов во многих областях: при производстве вакцин, в вирусологии, токсикологических исследованиях, при тестировании безопасности различных продуктов и лекарств, в физиологических исследованиях и санитарно-гигиенических работах.

Однако имеются еще более широкие перспективы в поиске альтернатив животным в экспериментальной практике. По отдельным направлениям биоэтической концепции трех Rs выполняются многочисленные работы химиками, биологами, математиками, специалистами в области компьютерных технологий с целью замены экспериментов на живых животных альтернативными методами и снижения количества животных в эксперименте.

В 1991 году в г. Ростове-на-Дону на I съезде токсикологов России, председателем которого был избран автор этой книги, впервые была выделена самостоятельная секция по альтернативным методам, на которой обсуждались возможности замены экспериментов на животных альтернативными методами при изучении механизмов токсического действия веществ.

Столетия назад были созданы многие из экспериментальных моделей, использующих животных, а изменения на развитие альтернативы в значительной степени оставили ученым и их интуитивной прозорливости.

По данным литературных источников, общественное мнение в США, Канаде и большинстве стран Европы одобряет подходы, исключающие использование животных в исследованиях. Правительство теперь признает, что такие подходы могут позволить преодолеть некоторые из ограничений, предполагающих проведение экспериментов над животными. Так, рекомендации Специального комитета Палаты лордов Великобритании предполагают создание «Центра трёх направлений», который должен стать административным органом по координации деятельности исследовательских коллективов, использующих лабораторных животных и занятых в существующих научных центрах высокого уровня. Правительство Великобритании и ряд государств Евросоюза поддерживает эти идеи.

Основной сутью концепций по замене лабораторных животных является междисциплинарность, которая в решение биомедицинских вопросов могла бы привнести целый набор применимых подходов от признанных исследовательских групп учёных, предполагающих отказ от использования животных в экспериментах. Они предусматривают финансирование и стимулирование высококачественных исследований с целью разработки методов замены животных в исследованиях, обучение исследователей и распространение знаний об альтернативных подходах и методах

Глава 20 ИММОБИЛИЗАЦИЯ ЖИВОТНЫХ

Обездвиживание животных представляет собой комплекс мер физического или фармакологического воздействия, направленный на сдерживание естественной подвижности животного в целях проведения необходимых действий по уходу, обследованию или проведению экспериментальных действий, включая анестезию. Качество полученных образцов напрямую зависит от обращения с животным во время эксперимента. Правильное обращение и обездвиживание может дать животному ощущение безопасности и таким образом уменьшить его боль и испуг. Это не только позволяет в некоторых случаях провести эксперимент без анестезии, но и удовлетворяет принципу гуманного обращения с животными. Одновременно с этим, правильное обращение с животными обеспечивает также безопасность персонала и исследователей, поскольку успокаивает животное.

Персонал должен быть обучен правильному обращению с животными, поскольку физический контакт с ними является частью их ежедневной работы по уходу за животными и их размножению. Исследователи также должны иметь опыт обращения с животными, так как именно они проводят большинство экспериментов. В противном случае желательно, чтобы обученный сотрудник ассистировал исследователю при проведении эксперимента.

Для того чтобы не испугать животное, не причинить ему вред или боль, движения при обращении с ним должны быть осторожными и мягкими. Во многих случаях целесообразно использовать сети и другие специальные приспособления для поимки и обездвиживания животного.

В исследованиях на животных возникает вопрос надежной фиксации отдельных частей тела или всего животного в целом. Без фиксации у собак или других крупных лабораторных животных трудно или невозможно проводить длительные внутривенные введения. Для иммобилизации животных их прикрепляют к столу или специальному устройству в положении на спине. В таком положении трудно проводить манипуляции на животном. Пребывание животных в таком неестественном положении является стрессорным фактором. Процесс фиксации животного в положении на спине является трудным и вызывает агрессивную реакцию у животных.

Существуют устройства фиксации крупных лабораторных животных, которые позволяют сохранить естественное положение животных, обеспечить надежную иммобилизацию тела всего животного или отдельных конечностей, на которых предполагается определенная манипуляция. Принцип этого устройства заключается в том, что и лоток и все стойки для конечностей и для морды легко трансформируются. Детали такого устройства можно легко подгонять под любые размеры животных по длине и высоте. В задней части устройства должен быть установлен пластиковый моче- и калоприемник. Под приемник подставляют посуду для сбора мочи или кала.

Мини—свиньи фиксируются матерчатым подбрюшником и тканевыми или синтетическими бинтами, надежно закрепляя их в станке в положении на животе.

Первое, с чем приходится сталкиваться исследователям при экспериментировании на свиньях, — это с необходимостью ограничить подвижность и провести анестезию. Механически частичную подвижность, необходимую, например, при взятии крови, можно ограничить путем подвешивания на ремнях, подводимых под передние и задние конечности и закрепляющихся на спине животного, как это делается в нашей лаборатории. Panepinto с соавторами [84] предлагают устройство для иммобилизации в виде гамака из грубого хлопчато-бумажного волокна типа парусины, снабженного рукавами для конечностей, укрепленным на стальных рамах. Есть и другие способы фиксации. Однако, каковы бы они ни были, важно соблюдать одно условие — свести к минимуму стрессовые факторы.

Подбрюшник размером 60 × 20 см изготавливают из ткани (лучше синтетической или полусинтетической). По углам и в середине к подбрюшнику пришивают четыре пары тесемок. Подбрюшником охватывают живот, грудь, затем его выводят между передними ногами животного на шейную часть, после чего фиксируют тесемками к продольным рейкам станка, и животное лишается возможности двигать корпусом в направлении сверху вниз и впе-

ред. Кроме того, такая фиксация уменьшает нагрузки на передние конечности, а опираясь на подбрюшник мини-свинья лишается возможности двигать ногами и наносить удары. Бинтом животное может быть дополнительно фиксировано к продольным рейкам. Мини–свиньи зачастую бывают крайне возбудимы и до начала основных экспериментов их следует приучить к условиям иммобилизации.

Собаки столь неоднозначны по своему поведению, что их во всех случаях, до начала иммобилизационных мероприятий, необходимо предварительно приучить к пребыванию в станке. Этому способствует кормление после того, как животное постоит привязанным в станке. После двух-трех таких тренировок собаку и других животных удается легко фиксировать и проводить необходимые процедуры без помощи посторонних лиц. Для полного обездвижения собаки прибегают к наркозу как рауш–ингаляционному, так и неингаляционному.

Кошку без особых усилий можно фиксировать на короткое время. Крепким захватом берут кошку за кожу в области затылка, а другой рукой — за кожу в области поясницы и легко прижимает ее к столу. Фиксированному таким образом животному без затруднений проводят ряд несложных манипуляций (оральное, подкожное или внутримышечное введение). Кошки становятся очень неспокойными и агрессивными при попытке ограничить их движения на более длительное время или при ряде насильственных вмешательств. Поэтому фиксировать животное нужно обдуманно, быстро и надежно. Обездвижить кошку можно, если запеленать голову и конечности куском крепкой ткани.

Кролики отличаются от других животных своим спокойствием и относительно слабым сопротивлением при фиксации. Привязывают их к специальным станкам или вивисекционным столам таким же образом, как кошек в собак. Следует иметь в виду, что при сильном запрокидывании головы у кроликов легко возникает смерть от удушья. Удобен способ фиксации кроликов в боксе с круглой прорезью в передней стенке. При этом голову животного выводят сквозь отверстие передней стенки наружу, а туловище размещают внутри. Для вживления электродов в головной мозг кроликов (это относится и к другим животным) используют специальный стереотаксический аппарат, надежно фиксирующий голову животного.

Фиксация *морских свинок* не представляет затруднения. Помощник удерживает животное за спину и под грудь так, чтобы большой и указательный пальцы охватывали шею, а другие пальцы обездвиживали передние конечности и ограничивали движения головы. Снизу он удерживает заднюю часть тела и задние конечности. Фиксированной таким образом морской свинке придают нужное положение. Если нужно фиксировать морскую свинку на длительное время, то ее привязывают к станку или операционному столику.

Белых лабораторных *крыс* берут за спину или хвост. Для фиксации животного вполне достаточно бывает взять его за кожу в области спины, а большим и указательным пальцами, удерживая крысу с боков, выдвинуть передние конечности кпереди. После этого животному придают нужное положение. Во избежание укусов нужно работать в резиновых или кожаных перчатках. Для фиксации крыс предложен ряд других специальных приспособлений — гильзы из проволочной сетки, цилиндры. Удобно фиксировать крысу, завернув ее в салфетку или в сетку из мягкой проволоки. Для длительного обездвиживания белых крыс фиксируют к операционному столу или к специальному станку.

Чтобы фиксировать *белую мышь*, ее ловят рукой или корнцангом за хвост, ставят на стол и большим и указательным пальцами левой руки захватывают кожу в области спины, а остальными пальцами удерживают задние конечности и хвост. Фиксированному животному придают нужное положение. Можно фиксировать при помощи корнцанга, захватив им кожу в области затылка, для более длительной фиксации применяют специальные гильзы, окутывают тело салфеткой или мягкой проволочной сеткой или привязывают к операционному столику. Для введения жидкостей в вену мышей можно применять специальные методы фиксации.

Сирийского хомячка для длительного обездвиживания следует укутать в салфетку или привязать к операционному столу, стараясь не причинять ему боль. При необходимости вызвать длительную иммобилизацию прибегают к наркозу, для чего можно использовать эфир, хлороформ, хлоралгидрат другие препараты.

Все группы перечисленных животных могут с успехом использоваться для изучения механизмов действия и эффективности местных анестетиков.

Таблица 51

Генетически обусловленные и экспериментальные биомодели для изучения местноанестезирующего действия веществ

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Модель для оценки терминальной анестезии	Кролики Кошки Крысы	Аутбредные « «	С С С	2-2,5 кг 3,5-4 кг 200-250 г	7-10 мес. 1-7 лет 5-12 мес.
Модель для оценки инфильтрационной анестезии	Морские свинки Кролики Мыши	Аутбредные « «	С С С	200-250 г 2-2,5 кг 18-20 г	2-30 сут. 5-6 мес. 2-2,5 мес.
Модель для оценки проводниковой анестезии	Лягушки Мыши Крысы Крысы Кролики Кошки	Rana temporaria Аутбредные « « « «	 С С С С С	200-250 г 18-20 г 180-220 г 200-250 г 2-2,5 кг 3,5-4 кг	2-30 сут. 2-2,5 мес. 3-4 мес. 4-5 мес. 5-6 мес. 1-7 лет

Окончание табл. 51

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Модель для оценки эпидуральной анестезии	Кролики	Аутбредные	С	2,8-3,6 кг	7мес.4 года
Модель для оценки спинномозговой анестезии	Крысы	Аутбредные	В С	200-250 г	3-4 мес.
Модель для оценки спинальной анестезии	Крысы	Аутбредные	С	200-250 г	3-4 мес.
Модель для оценки местнораздражающего действия веществ по методу Hoppe, Alexander и Miller, Kollzer и Wehr	Крысы	Белые аутбредные	С	Не менее 120 г	С 2 мес.

Хотелось бы ещё раз подчеркнуть, что использование фармакологических средств, если они не влияют на результат эксперимента, целесообразно и с точки зрения гуманности необходимо при выполнении вивисекционных и иных травмирующих животное исследований.

Глава 21 НАРКОЗ

Наркоз у животных традиционно осуществлялся различными фармакологическими средствами (хлороформ, эфир, морфин, хлоралгидрат, уретан, гексенал, тиопентал натрия, хлоралоза и др.) и различными путями (ингаляционный, интратрахеальный, внутривенный, внутримышечный, ректальный). Чаще всего пользуются комбинированным морфинно-эфиро-хлороформным наркозом. Для этого морфин в виде 1-2 %-ного раствора вводят под кожу из расчета 5-8 или 10 мг на 1 кг веса животного. Лучше пользоваться раствором морфина с атропином. Через 10—20 мин после инъекции у собак может быть рвота, дефекация (не всегда), дремотное состояние и заметная адинамия. Спустя 30—35 мин после введения морфина собака почти не оказывает сопротивления и ее легко привязывать.

Ингаляционный наркоз. После фиксации крупных лабораторных животных (*мини-свиньи, овцы, бараны, собаки, кошки*) на морду надевают маску и дают эфиро-хлороформную смесь (одна часть чистого хлороформа и две части этилового эфира для наркоза). Чтобы ускорить наступление наркоза, первоначально в течение 1–3 мин можно давать один чистый хлороформ. Не следует пользоваться хлороформом у *кошек*, к которому они весьма чувствительны. Необходимо внимательно и регулярно следить за дыханием, состоянием корнеальных рефлексов, равномерно добавлять наркотическую смесь.

При необходимости проведения оперативных вмешательств у лабораторных животных (*мини-свиней, овец, собак, кошек, кроликов*) следует применять внутритрахеальный наркоз. Вначале дают эфироморфинный или хлороформно-эфиро-морфинный наркоз. Под визуальным контролем интубируют через рот широкую трубку. Глотку вокруг трубки рекомендуется тампонировать влажной марлей. Интубационную трубку присоединяют к наркозному аппарату. Чаще всего пользуются эфирнокислородной смесью.

Энтеральный наркоз включает в себя ректальный и оральный. За сутки до начала наркоза животным дают слабительное, лучше сульфат магния или натрия, а перед наркозом делают очистительную клизму. Под кожу вводят морфин с атропином и спустя 10–20 мин приступают к ректальному введению наркотика. Нельзя вводить морфин *кошкам*, так как у них он вызывает не угнетение, а возбуждение нервной системы с явлениями галлюцинаций и даже судорог. Для ректального наркоза чаще всего используют 10%-ный раствор хлоралгидрата, приготовленный со слизью крахмала, салепа или настоя алтейного корня. Наркотической дозой хлоралгидрата является 0,3—0,5 г/кг. Хлоралгидрат можно использовать для орального введения в дозах 0,4–0,6 г/кг, а также внутривенного и внутрибрюшинного введения из расчета соответственно 0,1–0,15 и 0,3–0,4 г на 1 кг веса. Хорошим наркотическим веществом является уретан. Дозы для внутривенного введения *собакам* — 0,7–1 г/кг, для внутрибрюшинного и внутримышечного — 1–1,2 г/кг. Хлоралозу (глюкохлоралозу) вводят собакам и другим лабораторным животным внутривенно в виде теплого, приготовленного на физиологическом растворе (0,8%), хлористого натрия. Доза 40 мг/кг у *собак* вызывает лишь возбуждение. Наркотические дозы 100–120 мг/кг, а дозы в 150 мг/кг уже токсичны. Таким образом, хлоралоза обладает небольшой наркотической широтой. Весьма чувствительны к оральному введению хлоралозы *кошки*. Смерть у них наступает от введения 65 мг/кг, в то время как *собаки* погибают от дозы 650 мг/кг.

Парентеральный наркоз следует проводить в сочетании с морфином. Тиопентал натрия (пентотал натрия) в виде свежеприготовленного 2%-ного раствора для внутрибрюшинного введения берется из расчета 1,5 мл на 1 кг веса, для внутримышечного — по 2 мл на 1 кг веса собаки, т. е. 30–40 мг/кг. Гексенал в виде 10%-ного свежеприготовленного раствора медленно вводят внутривенно из расчета 30–40–50 мг/кг. Маленьким *собакам, кошкам и кроликам* гексенал в виде 1–2%-ного раствора можно вводить внутрибрюшинно. Для этого животное фиксируют следующим образом: заднюю часть туловища приподнимают и каудальнее пупка, несколько отступив от средней линии, делают прокол брюшной стенки. Для *крупных животных* раствор гексенала при внутрибрюшинном введении должен быть более концентрированным (2–5%-ный), доза наркотика составляет при этом от 50 до 70 мг/кг.

Спинномозговое обезболивание проводят введением новокаина или совкаина в спинномозговой канал между 1-м и I хвостовыми позвонками (сакральное эпидуральное обезболивание) или на уровне верхних углов подвздошной кости. Для этого животное фиксируют в боковом положении или спиной кверху, подложив ему под живот, находящийся у края стола, подушку и дугообразно выгнув его спину. Выстригают шерсть, дезинфицируют кожу в области первых хвостовых позвонков и в этом месте делают прокол. В зависимости от величины *собаки* ей вводят от 2 до 10 мл 2%-ного новокаина или 0,1%-ного совкаина. У *кошек* можно проводить люмбальную спинномозговую анестезию, для чего делают прокол между последним поясничным и 1-м хвостовым позвонком с последующим введением 1%-ного раствора новокаина или 0,1%-ного совкаина

Местная анестезия слизистых оболочек достигается 2—5—10%-ными растворами кокаина или дикаина.

Комбинированный наркоз является наиболее распространенным и общепринятым видом обездвиживания, выключения сознания и обезболивания у лабораторных животных. Этот вид наркоза является наиболее оптимизированным подходом в клинической анестезиологии, что, в свою очередь, делает его приемлемым в необходимых случаях биомоделирования лабораторных животных.

Так, например, при комбинированном наркозе у средних и мелких животных (*кошки, кролики*) лучше начинать с этилового эфира. Животное помещают под стеклянный колпак, куда кладут кусок ваты, обильно смоченный эфиром. Для достижения наркоза необходимо 20—30 мл эфира (в зависимости от веса животного). Внимательно следят за дыханием и тонусом животного, так как в этих условиях легко передозировать наркотик. В состоянии наркоза фиксируют животное к операционному столу и в дальнейшем, по мере надобности, поддерживают глубину наркоза нанесением эфира на маску. Гексеналовый наркоз в дальнейшем следует проводить с осторожностью, поскольку барбитураты потенцируют эффекты морфина в отношении дыхательного центра. Лучше применять этаминал натрия (нембутал) внутрибрюшинно или подкожно в виде 5%-ного раствора по 40—60 мг/кг. Наркоз наступает через 10—15 мин после введения. Если же наркотическое состояние при этом не развилось, необходимо ввести дополнительную дозу, равную 1/4 предыдущей дозы. Естественно, что для парентерального введения растворы должны быть стерильными.

Для анестезии при небольших хирургических процедурах можно внутримышечно вводить различные нейролептики: фентанил [111], диазепам [86], смесь пентобарбитала натрия и скополамина гидрохлорида [283]. Некоторые авторы [293] для длительной анестезии предлагают свой способ, заключающийся в последовательном внутримышечном введении вначале смеси анальгетика мередина гидрохлорида и транквилизатора азаперона, а через 20 мин —

смеси наркотиков: кетамина гидрохлорида и сульфата морфия. Недостатком внутримышечного введения обезболивающих препаратов является невозможность регулирования уровня иммобилизации. Этого можно добиться путем внутривенного введения обезболивающих препаратов, например, через ушную вену [621]. Многие исследователи считают наиболее эффективным ингаляционный наркоз, в том числе и с предварительным внутривенным введением барбитуратов [175, 660].

Собакам и другим крупным животным (*мини-свиньи, овцы*) можно вводить сернокислую магнезию в виде 25%-ного раствора внутривенно по 1,0–1,5 г/кг или внутримышечно по 1,25 г/кг. Лучшие результаты этот препарат дает в комбинации с морфином. Наркоз можно вызывать и иными наркотическими средствами, которые указаны в дальнейшем изложении.

Следует особо подчеркнуть, что перед дачей наркоза, а во многих случаях и перед началом эксперимента, абсолютно необходима *премедикация, или лекарственная подготовка.*

У *кроликов* и *кошек* лекарственная подготовка, или премедикация, включают последовательное, комбинированное или раздельное применение следующих препаратов: атропин 0,2 мг/кг подкожно (п/к) за 30 мин.; фентанил-флюанизон 0,1–0,5 мл/кг внутримышечно (в/м); диазепам или мидазолам 2 мг/кг внутривенно (в/в), интраперитонеально (и/п) или в/м; кетамин 25 мг/кг + ксилазин 4 мг/кг в/м.

После премедикации можно перейти к общей анестезии. Для этого небольшими концентрациями этилового эфира, но не хлороформа (кролики и кошки весьма чувствительны к хлороформу и быстро от него погибают), можно вызывать неглубокий наркоз. Для получения глубокого наркоза эфир нужно добавлять небольшими порциями, осторожно. Необходимо помнить, что при одновременно даваемой большой дозе может наступить остановка дыхания и смерть. Кролики хорошо переносят уретановый наркоз. Уретан вводят по 0,6–1 г на 1 кг веса в/б и в/м (20–40%-ный раствор). Хлоралгидрат вводят в виде 10–12%-ного раствора в/в в дозе 100–150 мг/кг или ректально в дозе 300–500 мг/кг. В смеси с морфином (100–250 мг/кг хлоралгидрата в 0,5–1 мг/кг морфина) его можно вводить в/б. Для наркоза можно пользоваться также барбитуратами кратковременного (гексенал, тиопентал) и среднего (этаминал, барбамил) действия. Наряду с классическими схемами наркоза в настоящее время рекомендуются следующие средства инъекционной анестезии.

- ✓ фентанил-флюанизон 0,3 мг/кг в/м, диазепам или мидазолам 2 мг/кг в/в или и/п спустя 5 мин.;
- ✓ кетамин 10мг/кг в/в + ксилазин 3 мг/кг в/в;
- ✓ медетомидин 0,3 мг/кг в/в + кетамин 20мг/кг + диазепам 1 мг/кг п/к.

При желании, экспериментатор может прибегнуть к ингаляционной анестезии:

- ✓ галотан 1,5–2,0%;

- ✓ энфлюран или изофлюран;
- ✓ метоксифлюран 0,4–1,0%.

Для получения более глубокого обезболивания можно ввести бупренорфин 0,02 мг/кг в/м или в/в 12 р/ч.

У *морских свинок* премедикация осуществляется следующими веществами и в следующей последовательности: атропин 0,05 мг/кг п/к.; фентанил-флюанизон 1,0 мл/кг в/м; диазепам 5 мг/кг и/п (не оказывает обезболивающего действия!); кетамин 100 мг/кг и/п.

Следует помнить, что наряду с отсутствием обезболивающего действия кетамина, применение эфира или хлороформа может дать негативные побочные эффекты со стороны сердечно-сосудистой и центральной нервной систем морских свинок. Современные средства для общей ингаляционной анестезии, хорошо переносимые морскими свинками, включают метоксифлюран и галотан. Для проведения наркоза ингаляционными средствами животное помещают под колпак, куда кладут ватку, смоченную одним из этих наркотиков. Вызвав таким образом неглубокий наркоз, животное привязывают и через маску продолжают вводить наркотики ингаляционным путем. Применяется также и хлоралгидрат. Хлоралгидрат лучше вводить вместе с морфином. Для наркоза могут быть использованы также другие неингаляционные наркотики: гексенал, тиопентал, уретан. В качестве неингаляционных средств общей анестезии используются:

- ✓ фентанил-флюанизон 1 мл/кг в/в + диазепам 2,5 мг/кг и/п 5 мин спустя;
- ✓ кетамин 40 мг/кг и/п + ксилазин 5 мг/кг и/п;
- ✓ медетомидин 0,5 мг/кг + кетамин 40 мг/кг и/п или в/м;
- ✓ фентобарбитон 25 мг/кг и/п.

В отличие от крупных животных морским свинкам для усиления обезболивающего эффекта рекомендуется вводить:

- ✓ аспирин 100 мг/кг п/о 4 р/ч;
- ✓ бупренорфин 0,05 мг/кг п/к 12р/ч.

У *белых крыс* премедикация осуществляется следующими веществами в нижеизложенной последовательности:

- ✓ атропин 0,05 мг/кг п/к, в/м за 30 мин.;
- ✓ фентанил-флюанизон 0,2–0,5 мл/кг в/м или 0,3–0,6 мл/кг и/п;
- ✓ диазепам или мидазолам 2 мг/кг в/в или и/п (не оказывает обезболивающего действия!); кетамин 25 мг/кг в/м дает слабый расслабляющий и обезболивающий эффект;
- ✓ ксилазин 1-3 мг/кг в/м.

Ингаляционный наркоз у белых крыс с осторожностью можно проводить при помощи этилового эфира, а также галотана и метоксифлюрана. Животное помещают под небольшой колпак, куда кладут ватку, смоченную эфиром, и следят за наступлением наркоза. Неингаляционный наркоз вызывают

подкожным или внутрибрюшинным введением уретана (10%), этаминала (в/б 40–50 мг/кг), барбамила (п/о 50–80 мг/кг), хлоралгидрата (200—250 мг/кг) и других наркотиков, например:

- ✓ фентанил-флюанизон 0,4 мг/кг и/п;
- ✓ фентанил-флюанизон 0,3 мг/кг + диазепам 2,5 мг/кг и/п;
- ✓ медетомидин 0,5 мг/кг + кетамин 75 мг/кг и/п или п/к;
- ✓ фентобарбитон 40 мг/кг и/п — без обезболивания!

Так же, как у морских свинок, для усиления обезболивающего эффекта вводят: аспирин 100 мг/кг п/о 4 р/ч; бупренорфин 0,1–0,5 мг/кг п/к 12 р/ч.

Для премедикации *мышей* используют следующие вещества:

- ✓ атропин 0,04 мг/кг п/к, в/м за 30 мин.;
- ✓ фентанил-флюанизон (гипнорм) (1:10 в 0,9%-ном растворе хлорида натрия) 0,01–0,03 мл/10 г; ксилазин 0,1 мг/10 г и/п на мышах дает слабый обезболивающий эффект.

Полное обездвиживание мыши можно получить под наркозом. Наркотизирование мышей проводят с осторожностью под этиловым эфиром, метоксифлюраном или хлороформом. Животное помещают под небольшой колпак, куда кладут ватку, смоченную средством для ингаляционной анестезии, и внимательно следят за дыханием и тонусом мышц.

Неингаляционный наркоз можно вызывать введением гексенала, барбамила, уретана а также других средств для неингаляционной анестезии:

- ✓ фентанил-флюанизона (гипнорма) (1:10 в 0,9%-ном растворе хлорида натрия) 0,03 мл/10 г + диазепам 0,05 мг/10 г и/п.;
- ✓ налоксона в качестве антагониста 0,00001–0,001 мл/10 г и/п или в/в; фентобарбитона 40 мг/кг и/п — без обезболивания!

Для усиления обезболивания вводят:

- ✓ аспирин 1,2 мг/10 г п/о 6 р/ч;
- ✓ бупренорфин 0,01–0,025 мг/10 г и/п или п/к 12 р/ч.

Таблица 52

Экспериментальные биомодели для изучения снотворных, наркотических и антинаркотических эффектов веществ

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Моделирование пролонгирования снотворного действия барбитуратов (введение гексенала в дозе 50 мг/кг, внутрибрюшинно)	Мыши Крысы	Аутбредные Аутбредные	♂♀ ♂♀	40-50 г 300-400 г	3-10 мес. 5-12 мес.
Моделирование гипнотического эффекта по боковому положению животных (введение гексенала в дозе 30-60 мг/кг, внутрибрюшинно)	Мыши Крысы	Аутбредные Аутбредные	♂♀ ♂♀	30-50 г 300-350 г	3-10 мес. 5-12 мес.

Окончание табл. 52

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Моделирование снотворного действия с электрофизиологических экспериментах: a. модель для оценки влияния в-в на циклы «сон–бодрствование»	Крысы	Белые аутбредные	С	300-350 г	5-12 мес.
b. моделирование депривации парадоксальной фазы сна по методу Жуве (модель нарушений сна при невротических расстройствах)	Крысы	Белые аутбредные	С	300-350 г	5-12 мес.
c. моделирование нарушений структуры «сон–бодрствование» при сдвигах дофаминхолинергических взаимодействий (при парксиническом синдроме и депрессивном состоянии)	Крысы	Белые аутбредные	С	300-350 г	4-5 мес.
Биомодель для исследования антинаркотического действия	Крысы	Аутбредные	В С	300-350 г	Взрослые особи

Пояснения к таблице можно найти в табл. 6, гл. 2.

Глава 22 ДОПУСТИМЫЕ МЕТОДЫ ЭВТАНАЗИИ ЖИВОТНЫХ

Эвтаназия *мышей* осуществляется углекислым газом в течение 10 мин, шейной дислокацией, фентобарбитоном (5%-ный раствор 0,5 мл и/п). Умерщвление *мышей* производят также эфиром, хлороформом, пропусканием через головной мозг электрического тока.

Эвтаназия *крыс* осуществляется углекислым газом в течение 15-20 мин, шейной дислокацией, фентобарбитоном (5%-ный раствор 0,5 мл и/п), гильотиной. *Крыс* умерщвляют также хлороформом или эфиром, помещая их в небольшую закрытую посуду, или пропусканием электрического тока через головной и спинной мозг.

Эвтаназия *морских свинок* осуществляется углекислым газом, фентобарбитоном 90 мг/кг и/п. *Морских свинок* умерщвляют также хлороформом, эфиром, вводя их ингаляционно, внутрибрюшинно и в толщу легких, а также пропусканием электрического тока от городской сети через головной и спинной мозг.

Эвтаназия *кроликов* осуществляется фентобарбитоном 100 мг/кг в/в или и/п. *Кроликов* можно умерщвлять нанесением удара по основанию черепа (при этом держат их за задние конечности вниз головой), внутривенным введением хлороформа, эфира или воздуха, а также пропусканием электрического тока из городской сети через спинной и головной мозг (один электрод в виде зажима Пеана

накладывают на угол рта, другой в виде иглы вводят под кожу в области крестца). Время воздействия тока 3–5 с.

Эвтаназия крупных лабораторных животных (*мини-свиньи*, *собаки, кошки и др.)* осуществляется введением в толщу легких или кровь хлороформа (5–7 мл), эфира (15–20 мл) или пропусканием электрического тока из городской сети через центральную нервную систему (один электрод в виде иглы вводят в области поясничных позвонков, а другой в виде зажима Пеана накладывают на угол рта). Более приемлемые методы изложены в табл. 53.

Таблица 53

Характеристика приемлемых методов эвтаназии экспериментальных животных [378]

Виды животных	**Скорость**	**Эффективность**	**Удобство**	**Риск**	**Гуманность**	**Оценка в баллах**	**Вещества и лекарственные препараты, физические методы выбора, дозы, формы и особенности применения для эвтаназии**
I. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ							
А) Препараты для инъекции							
1. Натрия пентобарбитонат (нембутал, nembutal)							
Грызуны Кролики Плотоядные Птицы Крупные млекопитающие	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	+ + + + —	+ + + + +	++ ++ ++ ++ ++	5 5 5 5 5	Обычно используется 18%-ный раствор (200 мг/мл) препарата в дозе 200 мг/кг в/в или в/б; для крупных птиц в/б или внутричерепная инъекция (Foramen magnum), для грызунов в/в и в/б инъекции; для кроликов и крупных млекопитающих в/в
2. Препарат Т-61							
Грызуны Кролики Плотоядные Птицы Крупные млекопитающие	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	— — — + —	+ + + + +	++ ++ + ++ ++	4 4 4 4 4	Т-61 является комбинацией местного анестетика, снотворного и курареподобного вещества. Средство предназначено только для медленного в/в введения, иначе оно вызывает боль у животных; птицам массой < 250 г можно вводить в грудную мышцу
3. Секобарбитал / дибукаин							
Плотоядные	++	++	—	+	++	4	Приемлемо в/в введение
4. Хиналбарбитон / нуперкаин							
Крупные млекопитающие	++	++	—	+	++	5	Приемлемо в/в введение лошадям

Продолжение табл. 53

Виды животных	**Скорость**	**Эффективность**	**Удобство**	**Риск**	**Гуманность**	**Оценка в баллах**	**Вещества и лекарственные препараты, физические методы выбора, дозы, формы и особенности применения для эвтаназии**
Б) Ингаляционные средства							
5. Двуокись углерода							
Грызуны	++	++	—	+	++	4	CO_2 в концентрации > 70% приемлем для грызунов, кроликов и свиней; для морских свинок и для цыплят в возрасте 72 ч — 100% CO_2. CO_2 не следует использовать для животных, способных нырять
Птицы	++	++	++	++	+	4	
Кролики	+	+	++	++	+	1	
Крупные млекопитающие	+	+	++	++	+	1	
6. Окись углерода							
Грызуны	+	+	+	—	++	2	Опасен для оператора
Птицы	+	+	++	—	+	2	
Кролики	+	+	++	—	++	1	
7. Летучие анестетики — галлотан, энфлуран, изофлуран							
Грызуны	++	++	++	+	++	5	Приемлемы; смерть необходимо подтвердить; у кроликов возникают признаки дистресса; для рыб используется только галлотан; из крупных млекопитающих применяются у ягнят и козлят
Плотоядные	++	++	+	+	++	4	
Птицы	++	++	++	+	++	4	
Кролики	++	++	++	+	—	2	
Крупные млекопитающие	+	+	+	+	+	2	
II. ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ							Методы использования физических факторов
8. Церквильная дислокация							
Грызуны	++	++	+	++	—	4	Приемлем для грызунов массой < 150 г, для кроликов < 1 кг.
Кролики	++	++	—	++	—	4	
Птицы	++	++	—	++	—	4	
9. Декапитация							
Грызуны	+	+	+	++	—	2	Можно использовать у грызунов и кроликов массой < 1 кг, но предпочтительнее другие методы
Кролики	+	+	+	++	—	2	
10. Сотрясение мозга (оглушение)							
Грызуны	++	++	+	++	—	4	Приемлем для грызунов массой < 1 кг, для птиц < 250 г и для новорожденных плотоядных; для крупных млекопитающих необходимо немедленное обескровливание
Кролики	++	++	+	++	—	2	
Птицы	++	+	—	+	+	2	
Плотоядные							
Крупные млекопитающие							

Окончание табл. 53

Виды животных	Скорость	Эффективность	Удобство	Риск	Гуманность	Оценка в баллах	Вещества и лекарственные препараты, физические методы выбора, дозы, формы и особенности применения для эвтаназии
II. ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ							Методы использования физических факторов
11. Оглушение электротоком							
Крупные млекопитающие	++	++	+	—	—	4	Смерть следует подтвердить. Не следует применять у кошек, так как их шерсть отличается высокой электропроводностью, и у рогатых животных, если рога мешают наложению электродов
Кролики	++	+	++	—	+	3	
Плотоядные	++	++	—	—	—	3	
Птицы	+	+	+	—	—	1	
12. Мацерация							
Птицы	++	++	++	++	—	4	Приемлем для цыплят в возрасте до 72 ч
13. Микроволновое облучение							
Грызуны	++	++	—	++	+	3	Применяется нейробиологами для фиксации метаболизма мозга; для мышей приемлемо облучение всего тела
Кролики	++	++	—	++	+	3	
Птицы	++	++	—	++	+	3	
14. Быстрое замораживание							
Грызуны	—	+	++	++	+	1	Приемлем, если это предусмотрено планом эксперимента. Приемлем для новорожденных грызунов и плодов кроликов с массой < 4 г
Кролики	+	+	++	++	+	1	
15. Привязной гарпун							
Крупные млекопитающие	++	++	++	+	+	5	Приемлем для крупных млекопитающих; гарпун не всегда эффективен для умерщвления крупных свиней и взрослых быков из-за толщины и плотности их черепов
Кролики	++	+	—	+	+	4	
Плотоядные	++	++	—	++	++	3	
16. Отстрел							
Пресмыкающиеся	++	++	++	—	+	4	Приемлем только в полевых условиях; предпочтителен для лошадей
Крупные млекопитающие	++	++	—	—	—	2	
Плотоядные	++	++	—	—	—	1	

Примечание. Приемлемость метода оценивается следующими показателями:

✓ скорость действия агента: «++» – очень быстро, «+» – быстро «—» – медленно;
✓ эффективность метода: «++» – высокоэффективен, «+» – эффективен, «—» – неэффективен;
✓ удобство метода: «++» – прост в применении, «+» – требует опыта, «—» – требует специального обучения экспериментатора;
✓ риск для оператора: «++» – безопасен, «+» – опасность минимальная, «—» – опасно;
✓ гуманность: «++» – приемлем для всех экспертов, «+» – приемлем для большинства экспертов, «—» – неприемлем для всех экспертов и экспериментаторов.
оценка в баллах «1-5»: 1 – не рекомендуемый метод, 5 – наиболее рекомендуемый метод.